


PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 : C07H 15/252, C07J 41/00 C07C 243/06, A61K 31/70 A61K 31/56, 31/03	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 90/10638 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. September 1990 (20.09.90)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP90/00344 (22) Internationales Anmeldedatum: 2. März 1990 (02.03.90) (30) Prioritätsdaten: P 39 07 290.8 7. März 1989 (07.03.89) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: EISENBRAND, Gerhard [DE/DE]; Eichendorffstr. 12, D-6900 Heidelberg (DE). (74) Anwalt: DEUFEL, SCHÖN, HERTEL, LEWALD, OT- TO; Isartorplatz 6, D-8000 München 2 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (euro- päisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), DE (eu- ropäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (euro- päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäi- sches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäi- sches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäi- sches Patent), US.		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelasse- nen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderun- gen eintreffen.</i>
(54) Title: ANTITUMORAL AGENTS WITH AN AFFINITY FOR STEROID HORMONE RECEPTORS (54) Bezeichnung: STEROIDHORMONREZEPTOR-AFFINE ANTITUMORWIRKSTOFFE (57) Abstract The invention concerns cytostatic conjugates, e.g., antineoplastic alkylants, antibiotics, anthracene diones, metal complexes and substances of vegetable origin or semisynthetic derivatives, which are linked by means of suitable connecting elements, in particular by an amide and/or ester bond with carrier molecules that possess a binding affinity for steroid hormone receptors. In the process for manufacturing these products, the connecting element is linked in a known manner on the one hand with an anti-tumoral agent and on the other hand with the carrier with the steroid receptor affinity, in particular by an amide and/or ester bond. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft Zytostatikakongugate, z.B. antineoplastisch wirkende Alkylantien, Antibiotika, Anthracendione, Metallkomplexe und Pflanzeninhaltsstoffe bzw. semisynthetische Derivate, die über geeignete Verbindungselemente, insbes. mittels einer Amid- und/oder Esterbindung mit solchen Trägermolekülen, die eine Bindungsaffinität zu Steroidhormonrezeptoren aufweisen, verknüpft sind sowie das Verfahren zu ihrer Herstellung, in dem in an sich bekannter Weise das Verbindungselement einerseits mit dem Antitumorwirkstoff und andererseits mit dem steroidrezeptoraffinen Träger, insbesondere über eine Amid- und/oder Esterbindung verknüpft wird.		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MR	Mauritanien
BB	Barbados	FR	Frankreich	MW	Malawi
BE	Belgien	GA	Gabon	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BJ	Benin	IT	Italien	SD	Sudan
BR	Brasilien	JP	Japan	SE	Schweden
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CG	Kongo	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CH	Schweiz	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CM	Kamerun	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland, Bundesrepublik	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

1

Steroidhormonrezeptor-affine Antitumorwirkstoffe

5 Zytostatika, die klinisch zur Behandlung maligner Tumoren eingesetzt werden, weisen häufig schwerwiegende Toxizität, insbesondere Myelotoxizität, Hepatoxizität, Nephrotoxizität und Lungentoxizität auf, die dosislimitierende Faktoren darstellen und die klinische Effektivität begrenzen (Eisenbrand G. et al: in Experimental und clinical
10 chemotherapy, Vol. III, Georg Thieme Verlag, 1984, 35-91).

Zahlreiche menschliche Tumoren, vor allem Mammacarcinome, Prostatacarcinome, bestimmte Gastrointestinaltumoren und bestimmte Hirntumoren enthalten Hormonrezeptoren. Dies
15 bietet die Möglichkeit einer gezielten Therapie durch Verknüpfung von Zytostatika mit rezeptoraffinen Trägern.

Aufgabe der Erfindung sind demnach Verbindungen, welche durch diese Verknüpfung eine Anreicherung im Tumorgewebe
20 erreichen, was eine Erhöhung der tumorspezifischen Wirkung und eine Verringerung der systemischen Toxizitäten mit sich bringen sollte.

Gegenstand der vorliegenden Patentanmeldung sind
25 Zytostatikakongjugate mit solchen Trägermolekülen, die eine Bindungsaffinität zu Steroidhormonrezeptoren aufweisen. Die Verknüpfung von Zytostatika und Trägern erfolgt über geeignete Verbindungselemente, wobei in der Regel Amid- oder Esterbindungen geknüpft werden.

30

N-Lost-Derivate und N-(2-Chlorethyl)-N-nitrosoharnstoffe sind Alkylantien. Einige Vertreter sind klinisch etablierte Antineoplastika. Weitere zeigen ausgeprägte antineoplastische Aktivität in experimentellen
35 Untersuchungen. Chlorambucil, Mephalan bzw. Acetylmelphalen,

- 1 N,N-Bis(2-Chlorethyl)-phosphorsäurediamid und
N-[N-(2-Chlorethyl)-N-nitrosocarbamyl]aminosäuren oder
oligopeptide besitzen eine freie Säuregruppe, die zur
Verknüpfung über ein Verbindungselement mit Trägermolekülen
5 ausgenutzt werden kann.
N-(2-Chlorethyl)-N'-(2-Hydroxyethyl)-N-nitrosoharnstoff und
N,N-Bis-(2-Chlorethyl)-aminoethylamin lassen sich über
Hydroxyl- bzw. Aminogruppe verknüpfen.
- 10 Die Verknüpfung von antineoplastischen Antibiotika, wie
Mitomycin, Adriamycin, Daunomycin, Epirubicin, sowie
Anthracendionderivate wie Mitoxantron und Amethantron wird
über eine Amino- oder Hydroxylgruppe vorgenommen.
Antineoplastische Metallkomplexe wie z.B.
- 15 (1,2-diaminoethan)-cis-dichloroplatin (II) werden über ein
geeignetes Verbindungselement z.B. COOH oder -OH an das
Trägermolekül gebunden. Als rezeptoraffine Träger dienen
Steroide einerseits und nichtsteroidale
steroidhormonrezeptoraffine Verbindungen andererseits. Der
- 20 Ausdruck Steroid umfaßt Verbindungen mit dem Grundgrüst der
Estran-, Androstan und Pregnanreihe. Nicht steroidale
rezeptoraffine Verbindungen sind vorzugsweise solche aus der
Reihe der 2-[4-(1,2-diphenyl-1-butanyl)-phenoxy]-ethylamine.
- 25 Im folgenden werden bevorzugte Ausgangsmaterialien, Träger
und Verbindungselemente zwischen Träger und
Antitumorwirkstoff gezeigt:
- Ausgangsmaterialien:
- 30 1. Unter Antitumorwirkstoffen werden folgende klinisch
etablierten bzw. experimentell hochwirksamen Verbindungen
verstanden:

- 1 Lost#Derivate
 # 4# $\left[\text{Bis}(2\text{-chloroethyl})\text{amino} \right]_2\text{-phenylbuttersäure}$
 (Chlorambucil) (1)
 # 4# $\left[\text{Bis}(2\text{-chloroethyl})\text{amino} \right]_2\text{-L-phenylalanin}$ (Melphalan) (2)
 5 # 4# $\left[\text{Bis}(2\text{-chloroethyl})\text{amino} \right]_2\text{-N-acetyl-L-phenylalanin}$
 (Acetylmelphalan) (3)
 # N,N-Bis(2-chloroethyl)aminoethylamin (Mustamin) (4)
 # N,N-Bis(2-chloroethyl)phosphorsäurediamid (5)
- 10 CNC#Derivate
 # N-(2-Chloroethyl)-N'-(2-hydroxyethyl)-N-nitrosoharnstoff
 (HECNU) (6)
 # N- $\left[2\text{-(2-Chloroethyl)-N-nitrosocarbamoyl} \right]$ -aminosäure (7)
 oder oligopeptide (8) (CNC#aminosäuren, CNC#oligopeptide)
- 15 Antitumor Antibiotica
 # Adriamycin (9)
 # Daunomycin (10)
 # Epirubicin (11)
 20 # Idarubicin (12)
 # Esorubicin (13)
 # Aclarubicin (14)
 # Carubicin (15)
 # Mitomycin (16)
 25 # Bleomycin (17)
- Anthracendione
 # 1,4-Dihydroxy-5,8-bis $\left[\left[2\text{-(2-hydroxyethyl)aminoethyl} \right]_2\text{amino} \right]$
 30 # 9.10-anthracendion (Metoxantron) (18)
 # 5.8-Bis $\left[\left[2\text{-(2-hydroxyethyl)aminoethyl} \right]_2\text{amino} \right]$ -9.10-antrha-
 cendion (Ametantron) (19)
- 35

1

Metallkomplexe

* N-Aminoalkyl-(1,2-diaminoethan)cis-dichloroplatin (II) (20)

* Carboplatin (21)

5

* PHIC (22)

* Hydroxy-DACH (23)

* CisPt(II)-Citrat

* CisPt(II)-Bisascorbat

* DCCP (24)

10

Pflanzeninhaltsstoffe bzw. semisynthetische Derivate

* Vinblastin (25)

* Vincristin (26)

* Vindesin (27)

15

* Vinzolidin (28)

* Etoposid (VM26) (29)

* Teniposid (VP16) (30)

2. Als Träger dienen:

20

Steroide, vorzugsweise solche mit Grundgerüst aus der Estran-, Androstan- oder Pregnan- (Gonan) -Reihe.

Vorzugsweise werden Hydroxygruppen-tragende Steroide

eingesetzt aus der Gruppe der Estra 1,3,5(10)triene,

25

Androstane, Androst-4-ene, Androst-5-ene, Estr-4-ene,

Estr-5(10)ene, Estra-4,9,11-triene, Pregn-4-ene,

Pregna-4,6-diene.

Vorzugsweise werden die Hydroxygruppe(n) in Position 11,

30

17 oder 21 verestert. Weiterhin werden nichtsteroidale

steroidrezeptoraffine Verbindungen, vorzugsweise aus der

Reihe der 2-[4-(1,2-diphenyl-1-butenyl)-phenoxy]ethylamine

eingesetzt.

35

- 1 3. Als Verbindungselement zwischen Träger und
Antitumorwirkstoff werden vorzugsweise eingesetzt:

- 5 \equiv Carboxalkylgruppen
 $\text{HOOC}\equiv(\text{CH}_2)_n\equiv$, $n = 1\div 11$
 \equiv Aminoalkylgruppen
 $\text{NA}_2(\text{CH}_2)_n\equiv$, $n = 1\div 12$
 \equiv Aminoalkylcarbonsäuren
 $\text{NH}_2\equiv(\text{CH}_2)_n\equiv\text{COOH}$, $n = 1\div 11$
10 \equiv ω -Carboxyalkyl- α -oxo-aminoalkylamine
 $\text{NH}_2\equiv(\text{CH}_2)_n\equiv\text{NH}\equiv\text{CO}\equiv(\text{CH}_2)_m\equiv\text{COOH}$, $n = 1\div 11$, $m = 1\div 12$
 \equiv ω -Carboxalkyl- α -oxo-aminoalkylaminoalkylamin
 $\text{NH}_2\equiv(\text{CH}_2)_n\equiv\text{NH}\equiv(\text{CH}_2)_n\equiv\text{NH}\equiv\text{CO}\equiv(\text{CH}_2)_m\equiv\text{COOH}$,
 $n = 1\div 11$, $m = 1\div 12$
15 Hydroxylierte Di- und Tricarbonsäuren
 \equiv Milchsäure
 \equiv Weinsäure
 \equiv Tartronsäure
20 \equiv Apfelsäure
 \equiv Citronensäure

Ethyldiamin-di-, tri- und tetracarbonsäure
Amino- oder Oligopeptide (bis Hexapeptid) aus identischen
25 oder unterschiedlichen Aminosäurebausteinen unter
vorzugsweiser Verwendung von folgenden α -Aminosäuren:

 \equiv Glycin
 \equiv Alanin
30 \equiv Valin
 \equiv Leucin
 \equiv Isoleucin
 \equiv Methionin
 \equiv Sarkosin
35

- 1 # Prolin
 # Hydroxyprolin
 # Cystein
 # Cystin
- 5 # Phenylalanin
 # Tyrosin
 # Tryptophan
 # Lysin
- 10 Tris#hydroxymethylaminomethan#monoster von hydroxylierten
 oder nicht hydroxylierten Dicarbonsäuren bzw. Ethylendiamin#
 di#, tri#, oder tetracarbonsäure.
- 15 Die Herstellung der Konjugate erfolgt durch Verknüpfung von
 Verbindungselement einerseits mit dem Antitumorwirkstoff,
 andererseits mit dem steroidrezeptoraffinen Träger über eine
 Ester# oder eine Amid#Bindung.
- 20 Die Veresterung erfolgt bevorzugt mit Carbonyldiimidazol
 oder Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) mit oder ohne Zusatz von
 p#Dimethylaminopyridin (DMAP). Die Amidierung erfolgt
 mittels Dicyclohexylcarbodiimid oder Carbonyldiimidazol mit
 oder ohne Zusatz von p#Dimethylaminopyridin oder über einen
 aktiven N#Hydroxysuccinimid Ester bzw. über ein Azid der
25 Säure.
- 30 Die Veresterung bzw. Amidierung wird bei Raumtemperatur
 vorgenommen. Allgemein ist die Reaktionsdauer zwischen 1 #
 24 h, bei Zimmertemperatur oder etwas weniger bei leicht
 erhöhter Temperatur, z.B. 1 # 12 h.
- 35 Folgende Lösungsmittel werden bevorzugt verwendet:
 n#Hexan, Dichlormethan, Chloroform, Ether, Aceton,
 Tetrahydrofuran, Methanol, Ethanol, Acetonitril, bzw. deren
 Gemische. Die Reindarstellung der Konjugate erfolgt entweder
 säulenchromatographisch an geeigneten Adsorptionsmitteln,

- 1 bevorzugt an Kieselgel, eluiert mit geeignetem Lösungsmittel
oder Lösungsmittelgemisch, oder durch Umkristallisation.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

5

Beispiel 1

17 β -O-(CNC-1-alanylaminohexylamino-1,4-dioxo-butyl)estradiol

- 10 1,4 g (3 mmol)
17 β -O(Aminohexylamino-1,4-dioxo-butyl)-estradiol und eine
Spatelspitze 4-Dimethylaminopyridin werden in 20 ml
Tetrahydrofuran (THF) gelöst und langsam wird eine Lösung
von 1,05 g (3,6 mmol) N-(CNC-L-alanyloxy)-tetrahydropyrrol
15 in 10 ml THF zugetropft. Nach 4 h versetzt man das
Reaktionsgemisch mit 40 ml Dichlormethan und schüttelt je 3
mal mit gesättigter NaHSO₄- und NaHCO₃-Lösung aus. Die
Dichlormethanphase wird über Natriumsulfat getrocknet und
unter Vakuum zur Trockne eingeeengt. Das Rohprodukt wird
20 durch Säulenchromatographie auf Kieselgel gereinigt.
Elutionsmittel: Ether(Aceton 10:2).
Weißes, amorphes Pulver, Ausbeute: 51 %

Elementaranalyse

C₃₄H₅₀ClN₅O₇, MW 676,25 g/mol

25	C	H	N
Ber. (%):	60,4	7,45	10,4
Gef. (%):	59,1	6,86	9,9

¹H-NMR (in CDCl₃)

- 30 δ (ppm) 7,6(d,1H), 7,3-7,0 (m, 1H), 6,7-6,4 (m,4H),
5,9 (t,1H), 4,6(m,2H), 4,1 (t,2H), 3,5 (t,2H), 2,0 (d,1H),
0,8 (s,3H)

IR (KBr) cm⁻¹: 3300, 2930, 2560, 1730, 1650, 1500, 1450,
1010, 735

35

1 Beispiel 2

17 β -O-(CNC-L-alanylaminohexylamino-1,4-dioxo-butyl)-19-nortestosteron

5 Die Darstellung von

17 β -O-(CNC-L-alanylaminohexylamino-1,4-dioxo-butyl)-19nortestosteron erfolgt analog zu Beispiel 1 unter Verwendung von 1,4g (3 mmol)

17 β -O-(Aminohexylamino-1,4-dioxo-butyl)-19-nortestosteron.

10 Weißes, amorphes Pulver, Ausbeute 37 %

Elementaranalyse

$C_{34}H_{52}ClN_5O_7$, MW 678,27 g/mol

Elementaranalyse:

	C	H	N
15 Ber. (%):	60,2	7,72	10,3
Gef. (%):	60,1	8,17	10,9
1H -NMR (in $CDCl_3$)			
δ (ppm) 7,6 (d, 1H), 5,7 (s, 1H), 4,6 (m, 2H),			
4,1 (t, 2H), 3,5 (m, 2H), 2,6 (d, 4H), 0,7 (s, 3H)			
20 IR (KBr) cm^{-1} :	3400, 2920, 2860, 1710, 1660, 1450, 735		

Beispiel 3

17 β -O-(CNC-aminoethoxy-1,4-dioxo-butyl)-estradiol

25

Man stellet den Estradiol-17-succinato-HECNU-ester-3-tetrahydropyranoether her und spaltet die Schutzgruppe mit p-Toluolsulfonsäure ab

Ansatz:

30

1,2 g Estradiol-3-tetrahydropyranylether

1,5 g HECNU-Hemisuccinat in 30 ml abs. THF

1,1 g DCC + 0,1 g DMAP

35

- 1 Nach ca. 30 sec entsteht ein weißer Niederschlag. Es wird
 noch 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei tritt deutliche
 Farbvertiefung von gelb nach rotbraun ein. Nach weiteren 3 h
 im Kühlschrank wird einrotiert, in Dichlormethan aufgenommen
 5 und mit Dichlormethan/THF - 50/1 über Kieselgel filtriert.
 DC (Dichlormethan/THF = 25/1): $R_f = 0,62$.
 Es wird in THF mit einer Spatelspitze p-Toluolsulfonsäuregel
 filtriert. Wenn die gelbe Verunreinigung die Säule verlassen
 hat, wird das gewünschte Produkt mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF} = 20/1$
 10 eluiert. Mehrmaliges Abrotieren mit Ether liefert
 schließlich in 63% Ausbeute einen hochviskosen gelben Stoff.
 DC (Dichlormethan/THF = 10/1): $R_f = 0,72$

Elementaranalyse: $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{ClN}_3\text{O}_7$ NW 549,0 g/mol				
15	C	H	N	Cl
Ber. (%)	59,1	6,43	7,7	6,5
Gef. (%)	58,9	6,67	7,5	6,7

- $^1\text{H-NMR}$ (in d_6 -DMSO)
- 20 δ (ppm): 9,01 (s, 1H), 8,92 (t, 1H), 7,15 (d, 1H),
 6,61 (d, 1H), 6,50 (s, 1H), 4,73 (m, 1H),
 4,20 (m, 4H), 3,72 (m, 4H), 2,80 (s, 4H),
 1-2,4 (m), 0,88 (s, 3H)
- 25 IR (KBr) cm^{-1} : 3405, 2970, 2933, 1732, 1532, 1499,
 1448, 1350, 1286, 1248, 1164, 1083,
 1008, 963

30 Beispiel 4

17 β -O-(CNC-aminoethoxy-1,4-dioxobutyl)-dihydrotestosteron

- Die Darstellung von Beispiel 4 erfolgt analog zu Beispiel 3
 mit dem Unterschied, daß das Steroidhormon keine
 35 Schutzgruppe trägt.

-10-

1 Ansatz:

1,0 g Dihydrotestosteron

1,8 g HECNU-hemisuccinat

50 ml abs. THF

5 1,2 g DCC

0,1 g DMAP

Hellgelbes amorphes Pulver

Elementaranalyse:

	$C_{28}H_{42}ClN_3O_7$	MW 568,1 g/mol		
10		C	H	N
	Ber. (%)	59,2	7,80	7,4
	Gef. (%)	59,5	7,89	7,1

Beispiel 515 17 β -O-(CNC-aminoethyl-1,4-dioxobutyl)-testosteron

Die Darstellung von Beispiel 5 erfolgt analog zu Beispiel 4.

Ansatz:

1,5 g (10 mmol) Testosteron

20 1,8 g (6 mmol) HECNU-hemisuccinat

50 ml abs. THF

1,2 g (6 mmol) DCC + 0,1 g DMAP

Reaktionsdauer: 8 h

DC (Dichlormethan/THF = 25/1): $R_f = 0,26$

25

Ausbeute: 1,6 g (56 % d. Th.)

Hellgelber viskoser Stoff

Elementaranalyse:

30	$C_{28}H_{40}ClN_3O_7$	MW 566,1 g/mol		
		C	H	N
	Ber. (%)	59,4	7,12	7,4
	Gef. (%)	59,1	7,13	7,4

35 1H -NMR (in d_6 -DMSO)

-11-

1 δ (ppm) 8,85 (t, 1H), 5,56 (s, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,09 (m, 4H), 3,60 (m, 4H), 2,52 (s, 4H), 0,8-2,4(m), 1,13 (s, 3H), 0,75 (s, 3H)

5 IR (KBr) cm^{-1} : 3395, 2946, 1734, 1671, 1531, 1492, 1332, 1272, 1232, 1161, 1083, 1040, 1010, 962

Beispiel 6

17 β -O-(CNC-aminoethoxy-1,4-dioxo-butyl)-19-nortestosteron

10 Die Herstellung von Beispiel 6 erfolgt analog wie Beispiel 4.

Ansatz:

1,4 g (5 mmol) 19-Nortestosteron

1,8 g (6 mmol) HFCNU-hemisuccinat

15 50 ml abs. THF

1,2 g (6 mmol) DCC + 0,1 g DMAP

Reaktionsdauer: 6 Stunden

Aufarbeitung:

Chromatographie über SiO_2 mit Dichlormethan/THF - 50/1

20 ergibt eine viskose Masse.

Ausbeute: 1,4 g (52 % d. Th.)

DC (Dichlormethan/THF = 25/1): $R_f = 0,21$

Elementaranalyse:

25	$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{ClN}_3\text{O}_7$	MW	552,1 g/mol		
		C	M	N	
	Ber. (%)	58,7	6,94	7,6	
	Gef. (%)	58,5	7,27	7,4	

30

Beispiel 7

Allgemeine Darstellungsvorschrift für

O/N,N-Bis-(2-chlorethyl)-diamidophosphoryloxyl-L-tyrosin-(steroid)-17 β -ester Hydrochlorid

35

- 1 Eine Lösung von 15 mmol (3,9 g)
N,N-Bis-(2-chlorethyl)-phosphorsäureamiddichlorid unter 15
mmol (5,57 g) N-tert.Butyloxycarbonyl-L-Thyrosinbenzylester
in 45 ml trockenem Benzol wird am Rückfluß erhitzt und
5 tropfenweise über einen Zeitraum von 15 min mit einer Lösung
von 17 mmol (2,37 ml) trockenem Triethylamin in 15 ml
trockenem Benzol versetzt. Das Reaktionsgemisch wird weitere
3 h am Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur
wird solange Ammoniakgas eingeleitet (ca. 15 min) bis das
10 Zwischenprodukt dünnschichtchromatographisch nicht mehr
nachgewiesen werden kann. Das ausgefallene Ammoniumchlorid
wird abgesaugt, das Filtrat eingeeengt und der Rückstand an
Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt.
Laufmittel: Ethylformiat
15 Ausbeute: 7,8 g (90 %).
- 15 mmol (8,62 g)
O- γ -N,N-Bis(2-chlorethyl)diamidophosphoryloxy- γ -N-tert-butyloxy-
20 carbonyl-L-Tyrosinbenzylester werden in 20 ml absolutem
Ethanol gelöst und mit einer Spatelspitze
Palladium/Kohlenstoff-Katalysator versetzt. Die
anschließende Hydrogenolyse bei Normaldruck wird solange
durchgeführt, bis der Wasserstoffverbrauch beendet ist (ca.
25 1 h). Nach Filtration wird die ethanolische Lösung zur
Trockene eingeeengt. Durch mehrmaliges Behandeln mit
trockenem Diethylether erhält man einen farblosen Schaum.
Ausbeute: 7,05 g (97 %)
- 30 4 mmol (1,94 g)
O- γ -N,N-Bis-(2-chlorethyl)diamidophosphoryloxy- γ -N-tert.butyl-
oxycarbonyl-L-Tyrosin werden in 30 ml Dichlormethan gelöst
und mit 4,4 mmol (713 mg) Carbonyldiimidazol versetzt. Nach
Beendigung der Gasentwicklung wird die Reaktionslösung 20
35 min im Ultraschallbad behandelt. Nach Zugabe von 4 ml des
Steroidalkohols wird das Reaktionsgemisch nochmals 30 min
beschallt und anschließend 2 Tage bei Raumtemperatur

1 gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der
Rückstand säulenchromatographisch aufgearbeitet (an
Kieselgel). Die Produkte werden als farblose Schäume
isoliert.

5 5 mmol

O-N,N-Bis-(2-chlorethyl)diamidophosphoryloxy7-N-tert-butyloxy-
carbonyl-L-tyrosin-steroid-17 β -ester werden unter Eiskühlung
mit 12 ml 0,2 N Salzsäure in Eisessig versetzt und ca. 1h
gerührt (DC-Kontrolle). Die Lösung wird zur Trockene
10 eingeengt, der Rückstand in 2 ml Methanol aufgenommen und
tropfenweise unter Rühren in 1 l Diethylether eingetragen.
Das Produkt fällt flockig weiß aus. Nach dem Abfritzen wird
das farblose Pulver noch 2mal mit Diethylether gewaschen und
anschließend im Hochvakuum getrocknet.

15

Ausbeute: 50 - 70 %

Auf diese Weise wurden die folgenden Verbindungen
hergestellt.

20

O-N,N-Bis-(2-chlorethyl)-diamidophosphoryloxy7-L-tyrosin-di-
hydrotestosteron-17 β -ester hydrochlorid

Elementaranalyse:

	$C_{32}H_{49}Cl_3N_3O_5P$	MW	693,1	
		C	H	N
25	Ber. (%):	55,4	7,13	6,0
	Gef. (%):	55,1	7,00	6,2

IR (KBr) cm^{-1} : 2950-2800, 1730, 1700, 1500, 1220

30

O-N,N-Bis-(2-chlorethyl)-diamidophosphoryloxy7-L-tyrosin-
estradiol-17 β -ester hydrochlorid

Elementaranalyse:

35

-14-

- 1 $C_{31}H_{43}Cl_2N_3O_5P$ MW 675,03 g/mol
- | | C | H | N |
|-----------|------|------|-----|
| Ber. (%): | 55,1 | 6,42 | 6,2 |
| Gef. (%): | 55,1 | 6,42 | 5,9 |
- 5 1H -NMR (in CD_3OD)
 δ (ppm): 7,3 (s, 4H), 6,4-7,2 (m, 3H), 4,8 (t, 1H)
 4,3 (m, 1H), 3,0-4,0 (m, 12H), 1,0-3,0 (m, 15H)
 0,72 (s, 3H)
- 10 O- \overline{N} ,N-Bis(2-chlorethyl)-diamidophosphorylox \overline{y} -L-tyrosin-19-nortestosteron-17 β -ester hydrochlorid
 Elementaranalyse
- | | C | H | N |
|-----------|------|------|-----|
| Ber. (%): | 54,6 | 6,65 | 6,2 |
| Gef. (%): | 53,6 | 6,53 | 6,2 |
- 15 1H -NMR (in CD_3OD)
 δ (ppm): 7,29 (s, 4H), 5,8 (s, 1H), 4,32 (d, 1H), 4,0-3,2
 20 (m, 12H), 2,4-1,1 (m, 22H), 0,82 (s, 3H)

Beispiel 8

- 25 N/ \overline{N} (Androstan-3-on-17-oxy-1,4-dioxo-butyl)-L-alanyl-leucyl \overline{y} -adriamycin

In einem typischen Ansatz wurden 32 mg
 Adriamycin-Hydrochlorid (0,055 mmol) in 12 ml absolutem
 30 Dimethylformamid suspendiert. Zur Freisetzung der
 Aminogruppe wurden 7, μ l absolutes Triethylamin zugesetzt.
 Anschließend wurde die Reaktionsmischung in
 Stickstoff-Atmosphäre mit einer Lösung von 174 mg
 DHT-Succ-Ala-Leu-N-Hydroxysuccinimidester in 3ml
 35 Dimethylformamid versetzt. Da nach DC-Abschätzung nach 12h

1 nur ca. halber Umsatz zu erkennen war, wurden nochmals
4 µl Triethylamin zugespritzt. Nach insgesamt 2d wurde in
Chloroform aufgenommen und mehrfach mit dest. Wasser
5 extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden mit Chloroform
reextrahiert. Nach Abziehen des Chloroforms am
Rotationsverdampfer wurde das zurückbleibende
Dimethylformamid im Ölpumpenvakuum bei Raumtemperatur
abgezogen. Der Rückstand wurde mehrfach über eine
10 Kieselgel-60-Platte (20x20 cm) (Chloroform/Methanol 15:1)
chromatographiert. Es wurden 43 mg (70 % DC-reine rotorange
Substanz erhalten.
R_f-Wert (Chloroform/Methanol 9:1) 0,32
Massenspektrum (FAB) : Molpeak m/c 1100
15 ¹H-NMR (in CDCl₃)
δ (ppm): 13,98 (s, 1H), 13,28 (s, 1H), 8,07 (d, 1H, 7,80
(t, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,05 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,12 (d,
1H), 5,51 (d, 1H), 5,27 (m, 1H), 4,75 (d, 1H), 4,30 (m, 1H),
4,25 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 4,09 (s, 3H), 3,98 (m, 1H), 3,79
20 (m, 1H), 3,22 (d, 1H), 3,05 (m, 2H), 2,60 (m, 1H), 2,42 (m,
2H), 1,48 (d, 3H), 1,31 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,90 (d, 3H),
0,78 (s, 3H), 0,62 (s, 3H)

Beispiel 9

25 1-4-(2-6-CNC-aminohexyl)-acetylaminooethoxy)-phenyl]-1-(4-
acetylphenyl)-2-phenyl-but-1-en
5,5 g (12 mmol)
30 1-4-(2-6-aminohexyl)-aminoethoxy)-phenyl]-1-(4-hydroxy-
phenyl)-2-phenyl-but-1-en, 12mmol CNC-azid und 10 ml
Essigsäureanhydrid Säulenchromatographie über Kieselgel
(Dichlormethan/THF = 30 : 1/d = 4,5 cm; l = 60 cm).
Ausbeute: 1,7 g (21 %) gelblichweißer, harziger, zähviskoser
35 Stoff
R_f-Wert (Dichlormethan/Ether/Petrolether = 1:1:1): 0,15

-16-

1 Elementaranalyse: $C_{37}H_{45}ClN_4O_6$ MW: 677,26 g/mol

	C	H	N	Cl
Ber. (%):	65,6	6,69	8,3	5,2
Gef. (%):	65,6	6,89	8,1	5,4

5

1H -NMR (in $CDCl_3$):

δ (ppm) 7,3-6,41 (m 13H), 4,25-3,9 (m 4H), 3,8-3,3 (m, 8H)
2,48 (q, 2H), 2,33/2,21 (2a, 3H), 2,12/2,05 (2s, 3H)
1,8-1,3 (m, 8H), 0,91 (t 3H)

10

Ir (KBr) cm^{-1}

3400, 2980, 2940, 1760, 1730, 1640, 1610, 1530, 1510, 1485,
1442, 1370, 1240, 1220, 1200, 1180, 1080, 1020, 965, 705

UV-Spektrum:

15

λ_{max} [nm]	(280,0)	239,5
ϵ	14990	25860

20

Massenspektrum:

m/e 568, 316, 211

Beispiel 10

25

1-[4-(2-[2-CNC-alanyl-aminoethylamid]-acetylaminooethoxy)-
phenyl]-1-(4-acetylphenyl)-2-phenyl-but-1-en

zu 600 mg (1,5 mmol)

30

1-[4-(2-[2-aminoethyl]-aminoethoxy)-phenyl]-1-(4-hydroxy-
phenyl)-2-phenyl-but-1-en in 30 ml Dichlormethan und 5 ml
Pyridin werden bei 0°C 470 mg (1,5 mmol)
CNC-alanyl-hydroxysuccinimidester in Dichlormethan getropft.

35

- 1 Nach beendeter Reaktion (ca. 1 h; DC-Kontrolle) werden noch 10 ml Essigsäureanhydrid zugegeben.

- 5 Nach 1 h wird die Reaktionsmischung mit eiskalter gesättigter NaHSO_4 -Lösung sauer gestellt und zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit gesättigter NaHCO_3 - und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert.

- 10 Säulenchromatographie über Kieselgel (Dichlormethan/Methanol = 30:1/d = 5 cm; l = 55 cm).

Ausbeute: 470 mg (45 %) gelblichweißer, harziger Stoff

FP: 70-73°C, sintert ab 50°C

R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol = 30:1): 0,24

15

Elementaranalyse: $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{ClN}_5\text{O}_7$ MW: 692,23 g/mol

	C	H	N
Ber. (%):	62,5	6,12	10,1
Gef. (%):	61,8	6,23	9,7

20

^1H -NMR (in CDCl_3):

δ (ppm) 7,45 (d, 1H), 7,3-6,45 (m, 13H), 4,52 (m, 1H),
4,3-4,05 (m, 4H) 3,85-3,35 (m, 8H),
2,48 (q, 2H), 2,33/2,21 (2s, 3H), 2,12/2,05
25 (2s, 3H), 1,5 (d, 3H), 0,91 (t, 3H)

IR (KBr) cm^{-1}

3330, 2980, 2940, 1755, 1730, 1680, 1635, 1610, 1510, 1490,
1444, 1370, 1240, 1220, 1200, 1080, 1020, 705

30 UV-Spektrum:

λ_{max} [nm]	(280,0)	239,5
ϵ	14360	24570

Massenspektrum:

35 m/e 625, 583, 316

1 Beispiel 11

CNC-alanyl-bisdesmethyldamoxifenamid

zu 270 mg (0,7 mmol)

- 5 1-[4-(2-aminoethoxy)-phenyl]-1,2-diphenyl-but-1-en und 160 mg (0,7 mmol) CNC-alanin in Dichlormethan werden bei 0°C 160 mg (0,8 mmol) DCC gegeben. Nach 2 h (DC-Kontrolle) wird der Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, die Lösung einrotiert, der Rückstand in Acetonitril aufgenommen, die Suspension
 10 filtriert, einrotiert und mit Diethylether aufgeschäumt. Säulenchromatographie über Kieselgel (Dichlormethan(Ether/Petrolether = 2:1:1/d=3 cm; l= 45 cm). Ausbeute: 160 mg (41 %) gelber, harziger Stoff
 Fp: 51-55°C, sintert ab 42°C
 15 R_f -Wert (Dichlormethan/Ether/Petrolether = 1:1:1): 0,37

Elementaranalyse: $C_{30}H_{33}ClN_4O_4$ MW: 549,08 g/mol

	C	H	N	Cl
Ber. (%):	65,6	6,06	10,2	6,5
20 Gef. (%):	65,3	6,26	9,8	6,7

 1H -NMR (in $CDCl_3$):

- (ppm) 7,4-7,1 (2s, 10H), 6,9-6,45 (4H), 4,55 (m, 1H), 4,1
 (t, 2H), 3,94 (t, 2H), 3,65 (t, 2H), 3,45 (t, 2H), 2,45 (q,
 25 2H) 1,5 (d, 3H), 0,91 (t, 3H)

IR (KBr) cm^{-1} 3330, 2980, 2940, 1725, 1670, 1610, 1525, 1510, 1492, 1444,
 1242, 1175, 1080, 969, 705

30

UV-Spektrum:

λ_{max} [nm]	(276,1)	238,1
ϵ	18040	27950

35

1

Massenspektrum:

m/e 440 300

5

Beispiel 12

4-Hydroxy-bisdesmethyldtamoxifen-succinato-HECNU-ester

10 Zu einer Lösung von 3,1 g (10,5 mmol) HECNU-hemisuccinat,
1,3 g (11 mmol) N-Hydroxysuccinimid und einer Spatelspitze
DMAP in Dichlormethan werden bei 0°C 2,2 g (11 mmol) DCC
zugegeben. Nach vollständiger Bildung des
N-Hydroxysuccinimidesters (DC-Kontrolle) wird die Suspension
15 zu 3,6 g (10 mmol)
1-[4(2-aminoethoxy)-phenyl]-1-(4-hydroxyphenyl)-2-phenyl-but-1
-en in Dichlormethan /Pyridin filtriert.

Nach 4 h wird eiskalte NaHSO₄-Lösung zugegeben. Nach
20 zweimaligem Extrahieren mit Dichlormethan wird die
organische Phase mit gesättigter NaHCO₃- und dreimal mit
NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird
einrotiert, der Rückstand in Acetonitril aufgenommen,
filtriert, einrotiert und mit Ether aufgeschäumt.
25 Säulenchromatographie über Kieselgel
(Dichlormethan/Methanol=100:1-30:1/d=5,5 cm; l= 55cm).

Ausbeute: 4,3 g (67,5%) gelber, zähviskoser Stoff

R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol=20:1):0,3

30

¹H-NMR (in CDCl₃):

δ (ppm) 7,465 (m, 1H), 7,19-6,45 (m, 13H) 6,05/5,97 (2t,
1H), 4,315/4,285 (2t 1:1, 2H), 4,16 (m, 2H), 4,1-4,04 (m,
2H), 3,91-3,54 (5m, 4H), 3,49 (m, 2H), 2,61 (m, 2H),
35 2,555-2,41 (m, 2H), 2,48 (q, 2H), 0,925/0,92 (2t, 3H)

1 Beispiel 13

1-4-(2-6-Chlorambucilaminohexyl-7-aminoethoxy)-phenyl-1-(4-hydroxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-but-1-en

5

Eine Lösung von 1,83 g (6mmol) Chlorambucil, 799 mg (6,5 mmol) N-Hydroxysuccinimid und 1,34 g (6,5 mmol) DCC wird bei 0°C in Dichlormethan 2 h gerührt. Anschließend wird das Gemisch zu einer Lösung von 2,93 g (6 mmol)

10 1-4-(2-6-aminohexyl-7-aminoethoxy)-phenyl-1-(4-hydroxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-but-1-en in 30 ml Triethylamin filtriert. Nach weiteren 2 h (DC-Kontrolle) wird eiskalte NaHSO₄-Lösung zugegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigte organische Phase
15 wird mit gesättigter NaHCO₃- und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

Säulenchromatographie über Kieselgel (Dichlormethan/THF= 7,3 + 0,5-2% Methanol/ d= 6cm, l= 55 cm)

Ausbeute: 2,63 g (57%) weißer, harziger Stoff

20 Fp: 55-58°C sintert ab 50°C

R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol=9:1): 0,34

Elementaranalyse: C₄₅H₅₇Cl₂N₃O₄ MW: 774,89 g/mol

	C	H	N	Cl
25 Ber. (%):	69,8	7,41	5,4	9,2
Gef. (%):	69,9	7,68	5,2	9,3

¹H-NMR (in CDCl₃):

(ppm) 7,2-6,4 (m, 16H), 5,65 (t, 1H), 4,2-3,9 (m, 2H),
30 3,73 (s, 3H), 3,64 (s, 8H), 3,3-2,9 (m, 4H), 2,8-2,35 (m, 6H)
2,2-2,0 (m, 2H), 2,0-1,8 (m, 2H), 1,7-1,2 (m, 8H), 0,91 (t, 3H)

IR (KBr) cm⁻¹

35 3300, 2940, 1645, 1610, 1510, 1460, 2440, 1360, 1240, 1175, 1035, 830

-21-

UV-Spektrum

1	$\lambda_{\text{max}} [\text{nm}]$	289,1	252,6
	ϵ	18510	36070

Massenspektrum

5 m/e 774/776/778 736

Beispiel 14

10 1-[4-(2-[6-(N-Acetyl-melphalan)-aminohexyl]-acetyl-aminoethoxy)-phenyl]-1-(4-acetylphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-but-1-en

Zu einer Lösung von 1,5 g (5 mmol) Melphalan in Dichlormethan/Triethylamin werden bei 0°C 2 ml Essigsäureanhydrid gegeben. Nach 1 h Rühren wird NaHCO₃-Lösung zugegeben und weitere 2 h gerührt. Anschließend wird mit gesättigter NaHSO₄-Lösung sauer gestellt und zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird mit NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Die so gewonnenen 1,15 g (3,2 mmol) Acetylmelphalan werden in Dichlormethan gelöst und bei 0°C mit 660 mg (3,5 mmol) DCC und 370 mg (3,5 mmol) N-Hydroxysuccinimid umgesetzt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wird diese Suspension zu einer Lösung von 1,56 (3,2 mmol) 1-[4-(2-[6-aminohexyl]-aminoethoxy)-phenyl]-1-(4hydroxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-but-1-en (4OH-4'OMe-HD-TAM) in eiskaltem Dichlormethan/Triethylamin filtriert. Nach 2 h wird eiskalte NaHSO₄-Lösung zugegeben. Anschließend wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase mit gesättigter NaHCO₃- und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

Rohausbeute: 3,44 g

Säulenchromatographie über Kieselgel
(Dichlormethan/Methanol=7:3/ d=4 cm, l=10 cm)

35

- 1 Ausbeute: 2,7 g 4-OH-4'OMe-HD-TAM-(N-acetyl-elphalan)amid,
leicht verunreinigt, aber das restliche 4OH-4'OMe-HD-TAM
kann abgetrennt werden.
- 5 Diese 2,7 g werden in Dichlormethan gelöst und nach Zugabe
von 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 ml Triethylamin bei 0°C
gerührt. Nach beendeter Acetylierung (DC-Kontrolle) wird
NaHCO₃-Lösung zugegeben und weitere 2 h gerührt.
Anschließend wird mit gesättigter NaHSO₄ und NaCl-Lösung
10 gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert.
Säulenchromatographie über Kieselgel
(Dichlormethan/Methanol/Petrolether = 76:4:20/d=6 cm, l = 70
cm).
Ausbeute: 1,56 g (54%) weißer, harziger Stoff
15 Fp: 78-80°C sintert ab 65°C
R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol=9:1):0,57

Elementaranalyse: C₅₀H₆₂Cl₂N₄O₇ MW: 901,97 g/mol

	C	H	N	Cl
20 Ber. (%)	66,6	6,93	6,2	7,9
Gef. (%)	66,5	7,18	6,1	7,9

¹H-NMR (in CDCl₃):

- (ppm) 7,22-6,51 (m, 16H), 4,55/4,48 (2m, 1H), 4,16-3,94
25 (m, 2H), 3,76/3,75 (2s, 3H), 3,73-3,59 (m, 8H), 3,51-2,87
(m, 8H), 2,44 (m, 2H), 2,31-1,96 (15s, 9H), 1,66-1,2 (m,
8H), 0,915 (m, 3H)

IR (KBr) cm⁻¹

- 30 3300, 2940, 1760, 1650, 1610, 1510, 1465, 1440, 1370, 1290,
1240, 1218, 1198, 1180, 1035, 840

-23-

1 UV-Spektrum:

$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	287,3	258,6
ϵ	16080	35420

5

Massenspektrum:

m/e 901/903/905

10 Beispiel 15

1-[4-(2-[N-Mustamin-5-carboxypentyl]-aminoethoxy)-phenyl]-1-(4-acetylphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-but-1-en

15 Zu einer Lösung von 3,6 g (6 mmol)

1-[4-(2-[N-carboxypentyl]-acetylaminethoxy)phenyl]-1-(4-acetylphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-but-1-en in Dichlormethan bei 0°C werden 1,4 g (6,5 mmol) DCC und 750 mg (6,5 mmol) N-Hydroxysuccinimid gegeben. Nach 2 h wird diese Suspension

20 zu einer Lösung von 1,6 g (6 mmol) Mustaminhydrochlorid in 10 ml Triethylamin filtriert.

Nach weiteren 2 h wird mit eiskalter NaHSO_4 -Lösung sauer gestellt und zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen,

25 über Natriumsulfat getrocknet, einrotiert, der Rückstand in Acetonitril aufgenommen, die Suspension filtriert und einrotiert.

Rohausbeute: 3,7 g

Säulenchromatographie über Kieselgel (Dichlormethan/THF =85:15 + Methanol 0-2%/d=6 cm, l=70 cm)

30

Ausbeute: 820 mg (18%) farbloses zähviskoses Öl, ergibt beim Einrotieren mit etherischer HCl einen blassgelben, harzigen, hygroskopischen Stoff

Fp: 53-59°C sintert ab 48°C (Hydrochlorid)

35 R_F -Wert (Dichlormethan/Methanol= 9:1): 0,8

- 1 ^1H -NMR (in CDCl_3):
 δ (ppm) 7,3-6,4 (m, 12H), 4,2-3,9 (m, 2H), 3,77 (s, 3H),
 3,55 (t, 4H), 3,47-3,15 (m, 4H), 2,9 (t, 4H), 2,68 (t, 2H),
 2,5-1,9 (m, 12H) 1,8-1,2 (m, 6H), 0,91 (t, 3H)
- 5 IR-(KBr) cm^{-1}
 3300, 2960, 1760, 1740, 1650, 1610, 1550, 1510, 1455, 1435,
 1370, 1290, 1240, 1220, 1200, 1175, 1110, 1030, 1020, 840
- 10 UV-Spektrum:
 $\lambda_{\text{max}} [\text{nm}]$ 285,1 239,2
 ϵ 11370 15520
- 15 Massenspektrum:
 m/e 754, 712

Beispiel 16

- 20 N-(Bisdesmethyldamoxifen)-1,4-dioxo-butyl-aminoethylamino-
 ethylamin-cis-dichloroplatin(II)
- 0,5 mmol (264 mg)
- 25 N-(Bisdesmethyldamoxifen)-1,4-dioxo-butyl-aminoethylamino-
 ethylamin werden mit 0,5 mmol (207 mg) K_2PtCl_4 in 5 ml
 $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (1:1) gerührt. Nach 3 Tagen setzt sich ein
 Niederschlag ab. Dann werden 50 ml 5 %ige KCl-Lösung
 zugesetzt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit NH_4Cl und
30 dann mit H_2O gewaschen. Das schwachgelbe Pulver wird über
 P_2O_5 getrocknet.

1

25

Patentansprüche

1. Zytostatikakongugate, z.B. antineoplastisch wirkende
 5 Alkylantien, Antibiotika, Anthracendione, Metallkomplexe
 und Pflanzeninhaltsstoffe bzw. semisynthetische Derivate,
 die über geeignete Verbindungselemente, insbesondere
 mittels einer Amid- und/oder Esterbindung mit solchen
 10 Trägermolekülen, die eine Bindungsaffinität zu
 Steroidhormonrezeptoren aufweisen, verknüpft sind.
2. Zytostatikakongugate nach Anspruch 1, dadurch
 gekennzeichnet, daß die Verknüpfung über freie
 15 Säuregruppen, Hydroxylgruppen oder Aminogruppen erfolgt
 ist.
3. Zytostatikakongugate nach Anspruch 1 oder 2, dadurch
 gekennzeichnet, daß als rezeptoraffine Träger Steroide
 20 einerseits und nichtsteroidale
 steroidhormonrezeptoraffine Verbindungen andererseits
 vorliegen.
4. Zytostatikakongugate nach Anspruch 3, dadurch
 gekennzeichnet, daß als Steroide solche mit dem
 25 Grundgerüst der Estran-, Androstan- oder Pregnanreihe und
 als nichtsteroidale rezeptoraffine Verbindungen solche
 aus der Reihe der
 2/4(1,2-diphenyl-1-butenyl)-phenoxyphenylamine vorliegen.
5. Zytostatikakongugate nach Anspruch 1 bis 4, dadurch
 gekennzeichnet, daß das Verbindungselement zwischen
 30 Träger und Antitumorwirkstoff Carboxy-
 C_1-C_{11} -Alkylgruppen, Amino- C_1-C_{12} -Alkylgruppen,
 Amino- C_1-C_{11} -Alkylcarbonsäuren,
 35 ω -Carboxy- C_1-C_{12} -Alkyl-1-oxo-amino- C_1-C_{11} -alkylamine,

1

ω-Carboxy-C₁-C₁₂-Alkyl-1-oxo-amino-C₁-C₁₁-alkylamino
-C₁-C₁₁-alkylamine, Hydroylierte Di- und
5 Tricarbonsäuren, Ethylendiamin-di-, tri- und
tetracarbonsäure, Amino- oder Oligopeptide (bis
Hexapaptid) aus identischen oder unterschiedlichen
Aminosäurebausteinen unter vorzugsweiser Verwendung von
alpha-Aminosäuren, Tris-hydroxymethylaminomethan-monoster
10 von hydroxylierten oder nicht hydroxylierten
Dicarbonsäuren oder Ethylendiamindi-, tri- oder
tetracarbonsäure, abgeleitet ist.

6. Verfahren zur Herstellung der Zytostatikakongjugate nach
15 Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß in an sich
bekannter Weise das Verbindungselement einerseits mit dem
Antitumorwirkstoff und andererseits mit dem
steroidrezeptoraffinen Träger, insbesondere über eine
Ester- oder über eine Amidbindung verknüpft wird.

20

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß
die Veresterung mit Carbonyldiimidazol oder
Dicyclohexylcarbodiimid mit oder ohne Zusatz von
p-Dimethylaminopyridin und die Amidierung mittel
25 Dicyclohexylcarbodiimid oder Carbonyldiimidazol mit oder
ohne Zusatz von p-Dimethylaminopyridin oder über einen
aktiven N-Hydroxysuccinimidester bzw. über ein Azid der
Säure erfolgt.

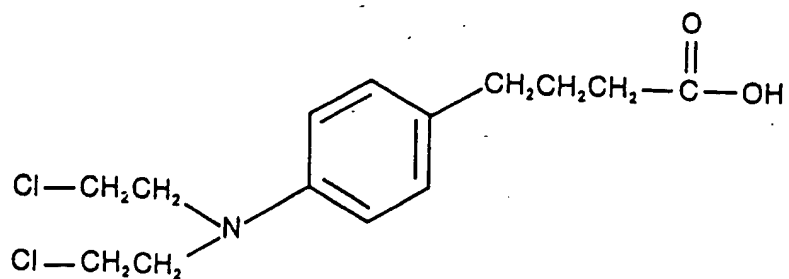
30

8. Verfahren nach Anspruch 6 bis 7, dadurch gekennzeichnet,
daß die Veresterung bzw. Amidierung bei Raumtemperatur
für eine Zeitdauer von 1 - 24 h, oder bei leichtem
Erwärmen 1 - 12 h erfolgt.

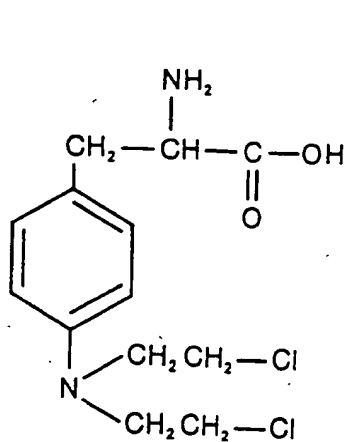
35

- 1 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch
gekennzeichnet, daß ein organisches Lösungsmittel oder
Lösungsmittelgemisch verwendet wird, das alle
Reaktionskomponenten löst.
- 5
10. Verfahren nach Anspruch 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet,
daß die Reindarstellung der Konjugate
säulenchromatographisch an geeigneten
Adsorptionsmitteln, insbesondere an Kieselgel und dann
10 Eluieren mit geeignetem Lösungsmittel oder
Lösungsmittelgemisch oder durch Umkristallisation
erfolgt.
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35

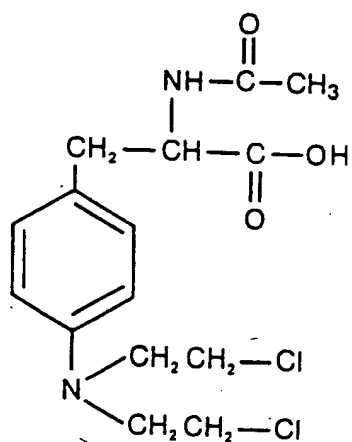
1/10



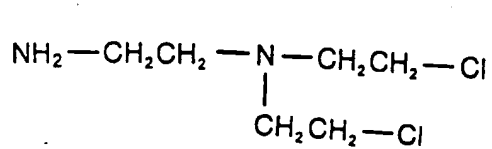
1



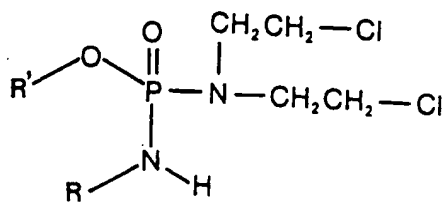
2



3



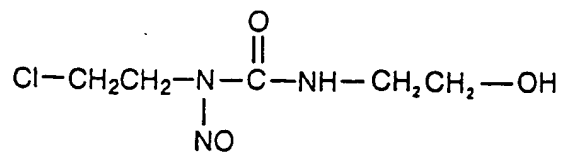
4



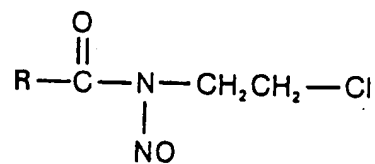
5

ERSATZBLATT

2/10

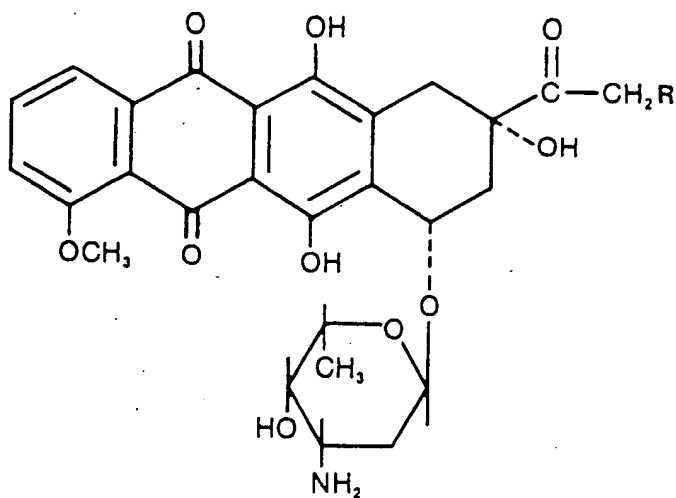


6



7: R=Aminosäure

8: R=Oligopeptid

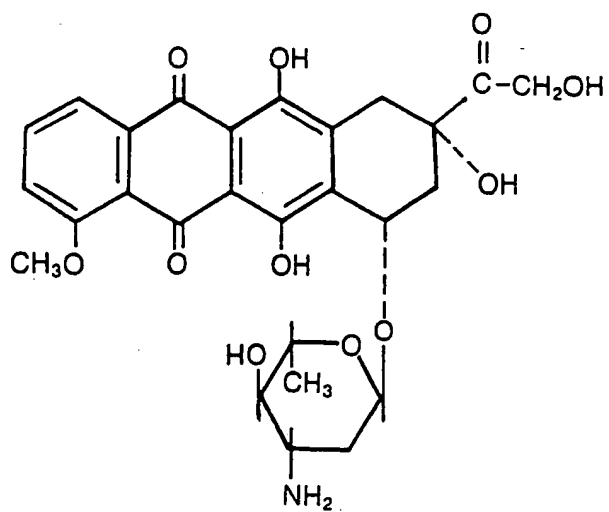


9: R=OH

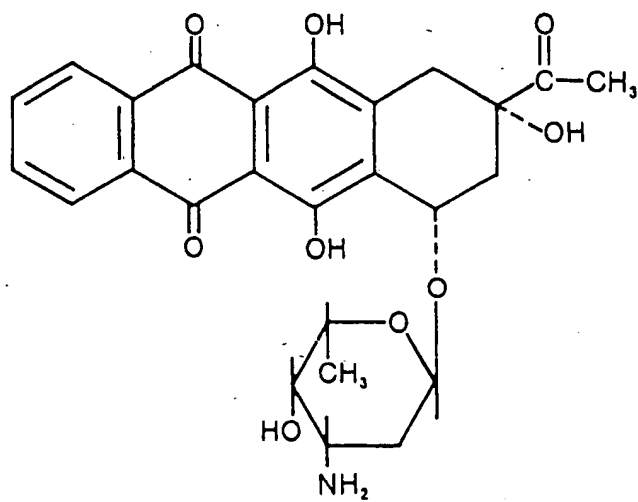
10: R=H

ERSATZBLATT

3/10



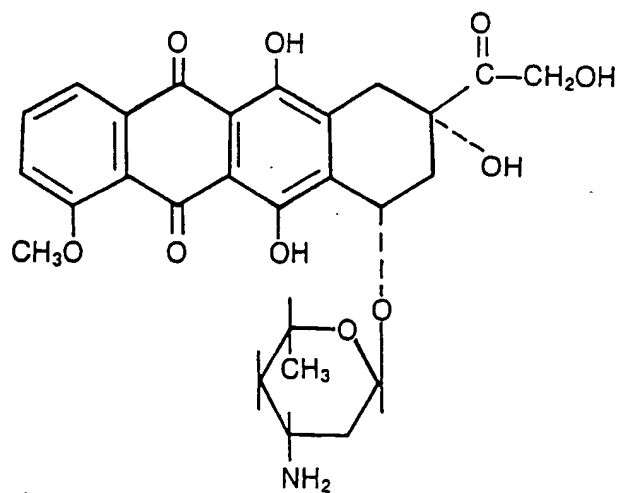
11



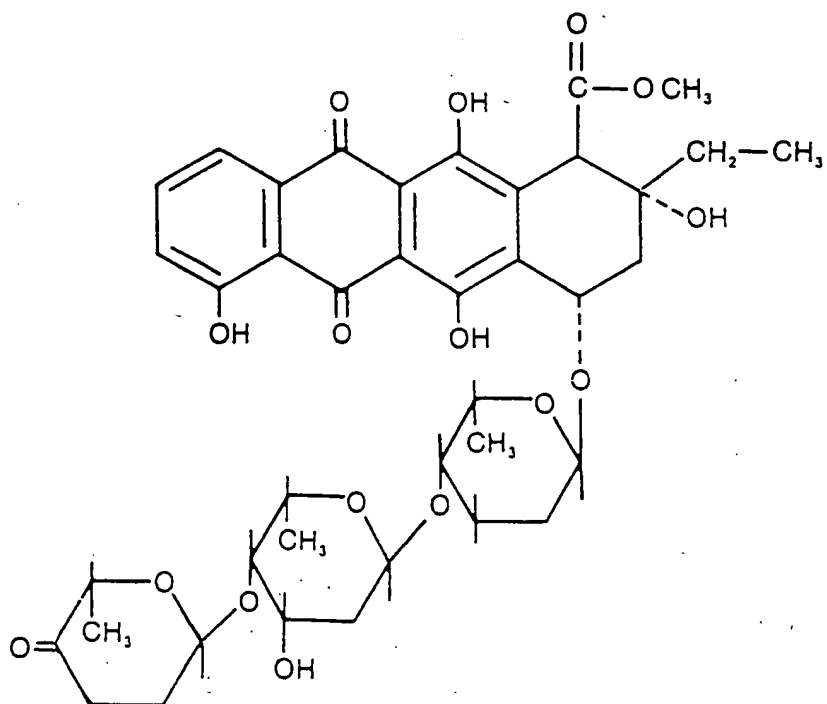
12

ERSATZBLATT

4/10

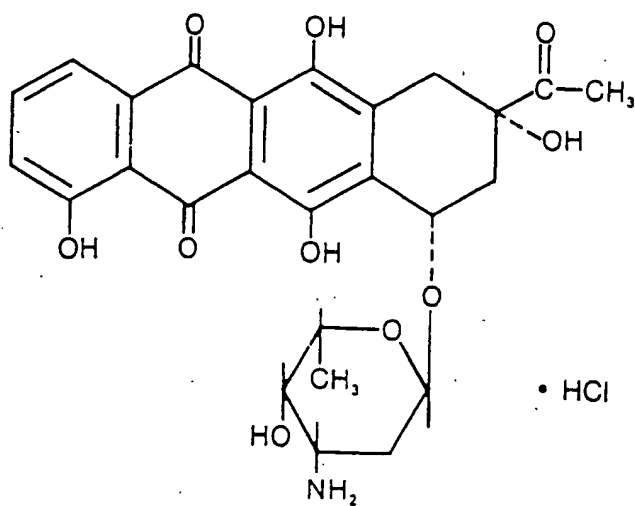


13



14

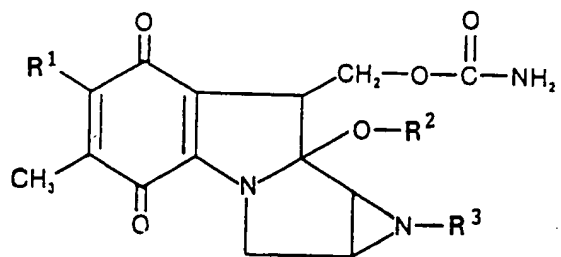
ERSATZBLATT



15

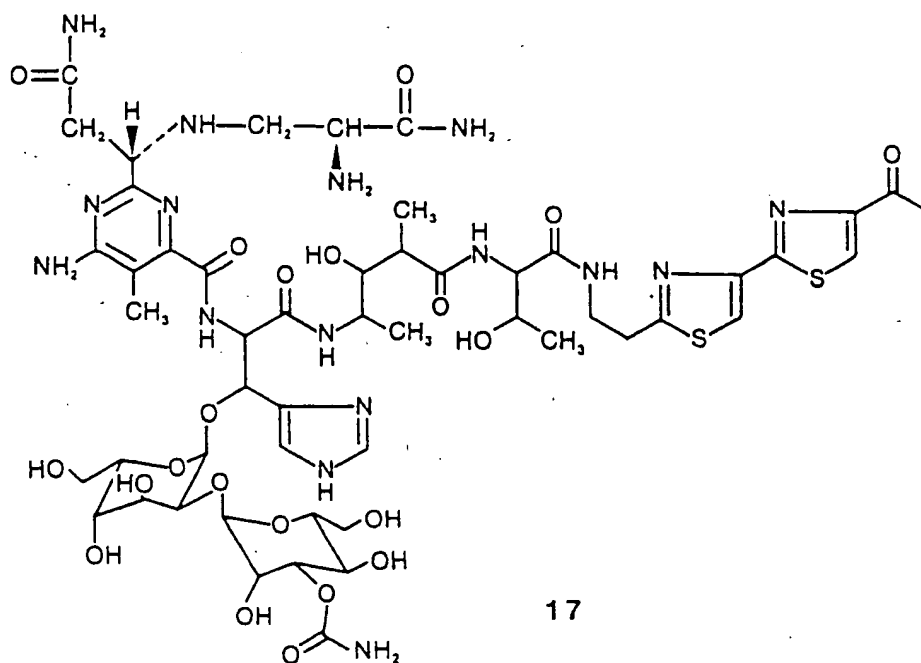
ERSATZBLATT

6/10



16

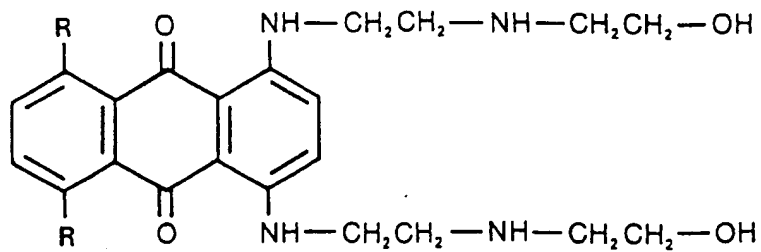
	R ¹	R ²	R ³
Mitomycin A	OCH ₃	CH ₃	H
Mitomycin B	OCH ₃	H	CH ₃
Mitomycin C (MMC)	NH ₂	CH ₃	H



17

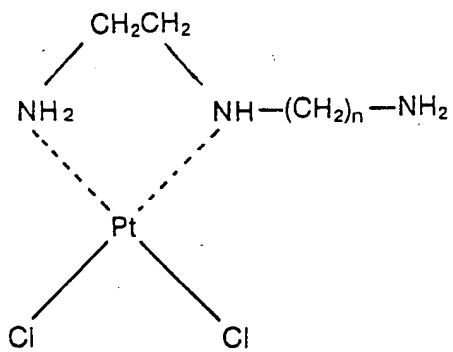
ERSATZBLATT

7/10

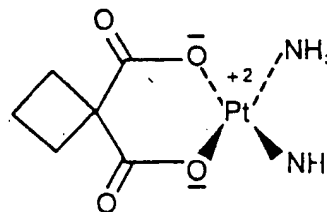


18 : R = OH

19 : R = H



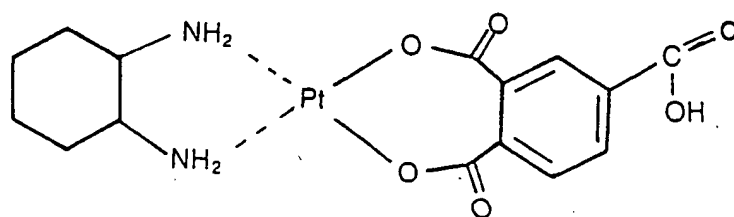
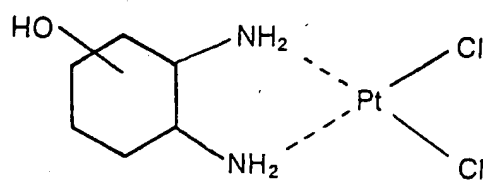
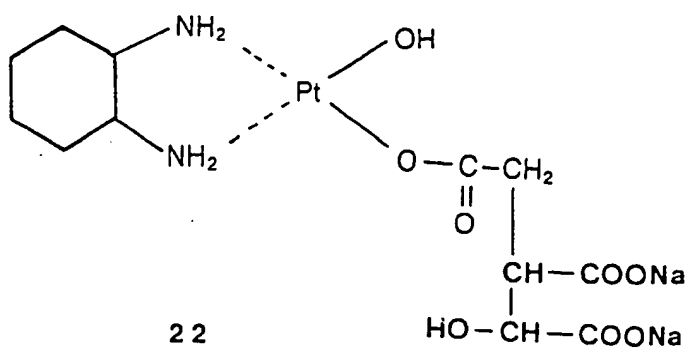
20



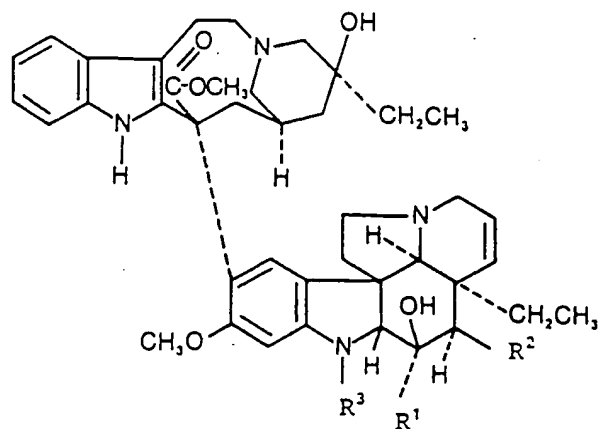
21

ERSATZBLATT

8/10



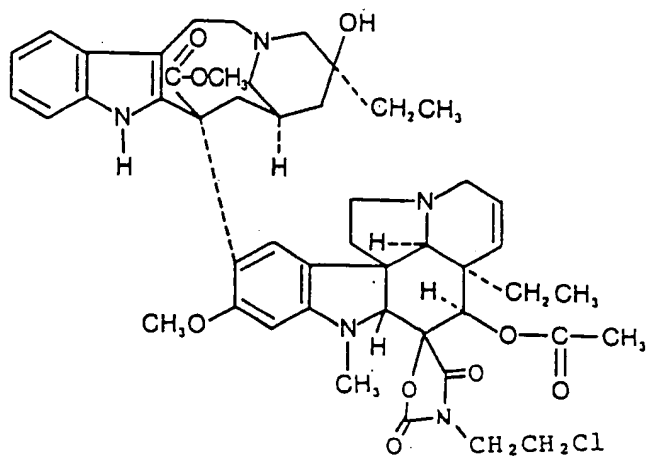
ERSATZBLATT



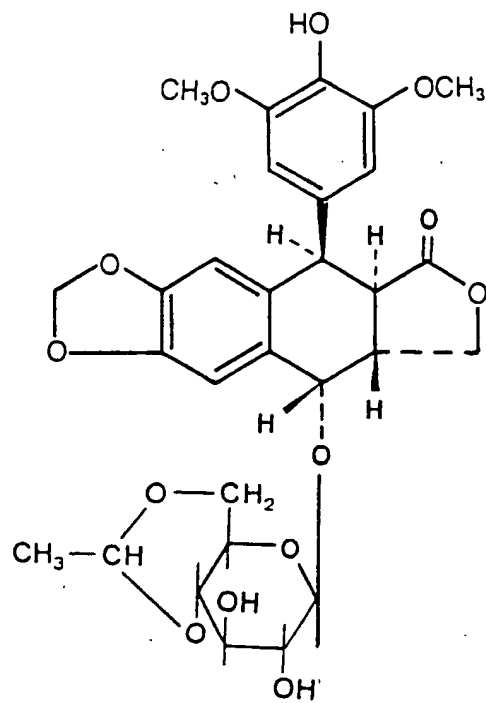
27: $R^1 = \text{CONH}_2$, $R^2 = \text{OH}$, $R^3 = \text{CH}_3$

25: $R^1 = \text{COOCH}_3$, $R^2 = \text{OCOCH}_3$, $R^3 = \text{CH}_3$

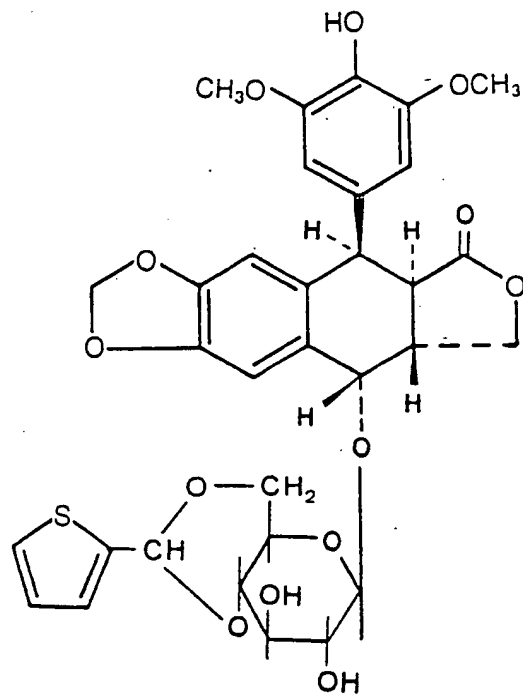
26: $R^1 = \text{COOCH}_3$, $R^2 = \text{OCOCH}_3$, $R^3 = \text{CHO}$



10/10



29



30

ERSATZBLATT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP90/00344

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl.5 C07H 15/252, C07J 41/00, C07C 243/06, A61K 31/70 A61K 31/56, A61K 31/03		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl.5	C07H 15/00, A61K 31/00	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ¹⁰	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
X	GB, A, 2201419 (FARMITALIA CARLO ERBA S.P.A) 1 September 1988 see the whole document -----	1-6,9,10
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>¹⁰ Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"Δ" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of this International Search Report
1 June 1990 (01.06.90)		29 August 1990 (29.08.90)
International Searching Authority		Signature of Authorized Officer
European Patent Office		

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

V. ☐ OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE ¹

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. ☐ Claim numbers because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claim numbers because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claim numbers because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

VI. ☐ OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING ²

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

For Further Information, Please see form PCT/ISA/206
Dated 20.06.1990

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims of the international application.

2. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which fees were paid, specifically claims:

3. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:

claims 1-10: Oestrone-Anthracycline Conjugates

4. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

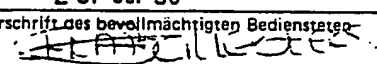
EP 9000344
SA 34877

FORM 10479

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 90/00344

KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶ Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC Int.Cl. ⁵ C 07 H 15/252, C 07 J 41/00, C 07 C 243/06, A 61 K 31/70, A 61 K 31/56, A 61 K 31/03		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff? ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Cl. ⁵	C 07 H 15/00, A 61 K 31/00	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	GB, A, 2201419 (FARMITALIA CARLO ERBA S.p.A.) 1. September 1988 siehe das ganze Dokument -----	1-6,9,10
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 1. Juni 1990		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 29.09.90
Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt		Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten  H. Rallasteros

WEITERE ANGABEN ZU BLATT 2

V. BEMERKUNGEN ZU DEN ANSPRÜCHEN, DIE SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN HABEN¹

Gemäß Artikel 17 Absatz 2 Buchstabe a sind bestimmte Ansprüche aus folgenden Gründen nicht Gegenstand der internationalen Recherche gewesen:

1. ☐ Ansprüche Nr., weil sie sich auf Gegenstände beziehen, die zu recherchieren die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

2. ☐ Ansprüche Nr., weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. ☐ Ansprüche Nr., weil sie abhängige Ansprüche und nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) PCT abgefaßt sind.

VI. ☒ BEMERKUNGEN BEI MANGELNDER EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG²

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

Für zusätzliche Informationen bitte siehe Formblatt PCT/ISA/206 vom 20.06.1990

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren gezahlt worden sind, nämlich
3. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; sie ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
Ansprüche 1-10: Oestrone-Anthracyclin Konjugate
4. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche eine Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hatte, hat die Internationale Recherchenbehörde eine solche Gebühr nicht verlangt.

Bemerkung hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

EP 9000344
SA 34877

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 09/08/90
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
GB-A- 2201419	01-09-88	Keine	

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82